**АННОТАЦИЯ**

диссертации на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D05105 – «Биотехнология»

**Батықова Жұлдыз Казбекқызы**

**«Разработка биопрепарата на основе иммобилизованных ризобактерий на различных сорбентах»**

**Общая характеристика работы.** Диссертационная работа посвящена подбору оптимальной технологии иммобилизации перспективных ризобактерий на природных сорбентах для создания биопрепарата. Предполагается, что такая форма препарата будет способствовать повышению стабильности бактериального инокулянта, его эффективному функционированию в ризосфере, улучшению агрохимических свойств почвы и, как следствие, стимулированию роста и развития модельного растения - кукурузы.

Проведён скрининг ризобактерий по их способности стимулировать рост растений, изучены их биологические свойства. Разобраны оптимальные условия иммобилизации ризобактерий на сорбентах.

Исследовано влияние разработанного биопрепарата на рост и развитие кукурузы, а также на агрохимические свойства почвы. Эффективность биопрепарата оценивали на основе морфометрических и физиологических показателей кукурузы. Определены научно-практические основы применения иммобилизованных форм ризобактерий в сельском хозяйстве с целью повышения биологической продуктивности растений.

**Актуальность темы исследования.** Традиционное интенсивное применение минеральных удобрений и пестицидов приводит к снижению плодородия почв, нарушению баланса питательных элементов, подкислению почвы и загрязнению окружающей среды. Данные проблемы особенно актуальны для сельскохозяйственных территорий Казахстана, где наблюдается деградация почв.

В связи с этим особое значение приобретает разработка экологически безопасных и биологически ориентированных подходов к повышению продуктивности растений. Перспективным направлением является использование ризобактерий, стимулирующих рост растений (РСГР), способных улучшать минеральное питание растений, продуцировать фитогормоны, подавлять фитопатогены и повышать устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. Однако, свободные бактериальные клетки не всегда хорошо сохраняются после внесения в почву, что связано с их низкой устойчивостью к неблагоприятным условиям среды и конкуренцией с аборигенной микробиотой. Одним из эффективных способов повышения стабильности и жизнеспособности РСГР является их иммобилизация на природных сорбентах.

В качестве перспективных носителей рассматриваются биоуголь и вермикулит, характеризующиеся пористой и слоистой структурой, высокой сорбционной активностью и способностью удерживать питательные элементы.

Их использование для иммобилизации ризобактерий способствует сохранению жизнеспособности бактерий, их контролируемому высвобождению в почву и усилению положительного взаимодействия в системе «растение–микроорганизм–почва».

**Цель исследования:**

Разработка биопрепарата на основе ризобактерий, иммобилизованных на природных сорбентах, направленного на восстановление плодородия почвы и стимулирование роста и развития модельного растения - кукурузы как компонента экологически устойчивой системы сельского хозяйства.

**Задачи исследования:**

1. Выделить ризобактерии, провести их скрининг по рост-стимулирующим свойствам и идентифицировать перспективные штаммы.
2. Определить химический состав и структурные характеристики различных сорбентов.
3. Подобрать оптимальные условия иммобилизации наиболее перспективных штаммов для создания биокомпозита «сорбент-бактерия».
4. Оценить влияние сорбент-ризобактериальных композиций на агрохимические свойства почвы, а также вегетационные и морфометрические показатели модельного растения – кукурузы в условиях тепличного опыта.
5. Обосновать состав и разработать технологию получения биопрепарата на основе иммобилизованных ризобактерий и композита «Вермикулит–Мискантус».

**Объекты исследования:**

Штаммы ризобактерий были выделены из ризосферы озимой пшеницы сорта «Алмалы» (*Triticum aestivum* L.), тритикале сорта «Таза» (×*Triticosecale* Wittm.), а также гибридов кукурузы «Тұран 480SV» и «КазЗП 200» (*Zea mays* L.), выращенных на полях Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства. В качестве сорбентов-носителей для иммобилизации использовали вермикулит, биоуголь из соломы пшеницы, биоуголь из мискантуса и биоуголь полученный из осадка сточных вод. В условиях теплицы в качестве модельного растения использовали трёхлинейный гибрид кукурузы Ceklad 235 (*Zea mays* L.).

**Методы исследования:**

В ходе диссертационной работы эксперименты проводились в лабораторных условиях с применением микробиологических, молекулярно-генетических, физико-химических и статистических методов: секвенирование фрагмента гена 16S рРНК, физическая адсорбция, энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия, сканирующая электронная микроскопия дисперсионного анализа (ANOVA).

**Научная новизна исследования:**

– Впервые разработаны научные предпосылки создания биопрепарата на основе биокомпозита «вермикулит–биоуголь Мискантуса» с иммобилизованной в нем ризобактерии.

– Впервые установлены наиболее эффективные комбинации бактериального штамма и сорбента, обеспечивающие высокую

жизнеспособность микроорганизмов и выраженный рост-стимулирующий эффект.

– Впервые выявлена взаимосвязь между физико-химическими свойствами природных сорбентов, выживаемостью иммобилизованных ризобактерий, изменением функциональных характеристик почвы и ростом модельного обьекта - кукурузы.

**Научная и практическая значимость работы:**

Три новых штамма ризобактерий, стимулирующих рост растений, были выделены из ризосферы растений и были идентифицированы. Нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК выделенных штаммов зарегистрированы в международной базе данных GenBank: *Stenotrophomonas indicatrix AS8, Pantoea agglomerans AS23* и *Bacillus thuringiensis AS31.*

Новый активный штамм *Bacillus thuringiensis* AS31 депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов (РКМ) под регистрационным номером B-RKM 1248. На штамм получен патент Республики Казахстан №11603 на полезную модель «Штамм *Bacillus thuringiensis* AS31 в качестве препарата против фитопатогенов».

Усовершенствованы методы иммобилизации ризобактерий на природных сорбентах - биоугле и вермикулите.

Экспериментально обоснованы экологические и агрономические преимущества применения иммобилизованных ризобактерий для восстановления плодородия почвы и повышения устойчивости агроэкосистем.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

– Биотехнологический потенциал трёх новых штаммов ризобактерий определяется комплексом ростстимулирующих и биоконтрольных свойств, включая синтез ИУК и сидерофоров, солюбилизацию фосфатов и цинка, продукцию аммиака и антагонистическую активность.

– Физико-химические, поверхностные и пористые характеристикиприродных сорбентов определяют их способность к эффективной иммобилизации бактериальных клеток. Наиболее эффективным биологическим объектом для иммобилизации является штамм *Bacillus thuringiensis* AS31, для которого установлены оптимальные параметры процесса.

– Иммобилизация ризобактерий на природных сорбентах повышает стабильность бактериального инокулянта, способствует его эффективному функционированию в ризосфере, улучшает агрохимические свойства почвы и, как следствие, стимулирует рост и развитие модельного растения - кукурузы.

– Биокомпозит «Вермикулит–Мискантус» является перспективной матрицей-носителем для *Bacillus thuringiensis AS31* и обеспечивает повышение эффективности биопрепарата по сравнению с индивидуальными сорбентами, что обосновывает возможность его практического применения.

**Проведённые исследования позволяют сформулировать следующие выводы**

1. Идентифицированы перспективные штаммы ризобактерий *Stenotrophomonas indicatrix* AS8, *Pantoea agglomerans* AS23 и *Bacillus thuringiensis* AS31 синтезировали ИУК (43,1–48,5 мг/л), сидерофоры (1,33–3,6 мг/л) и аммиак (22–25 мг/л), солюбилизировали фосфаты и цинк (SI 2,3–4,0), а также проявляли антагонистическую активность в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium graminearum, F. solani, F. oxysporum, Alternaria alternata* и *Pythium aphanidermatum*.

2. Определены химический состав и структурные параметры различных сорбентов-носителей. Удельная площадь поверхности биоугля из пшеничной соломы и вермикулита составила 17 и 23,24 м²/г соответственно, а у биоугля Акмеко и Мискантус - 59 и 174 м²/г. Биоуголь Мискантус характеризовался наибольшей удельной площадью поверхности и развитой пористой структурой и был определен как перспективный носитель для иммобилизации ризобактерий.

3. Установлена высокая эффективность иммобилизации для *Bacillus thuringiensis* AS31 - 83,3 %. Исходная концентрация бактериальной суспензии для иммобилизации состовляет $10^7$ КОЕ/мл и продолжительность иммобилизации - 18 ч.

4. Установлена эффективность сорбент - бактериальных композиций на основе *Bacillus thuringiensis* AS31. Выбрано по принципу двойного действия вермикулит и биочар из мискантуса. Вермикулит отвечает за выраженное увеличение надземной и корневой биомассы кукурузы - на 27,5 и 104,8% и повышал содержание Ca - на 10,9%, Mg - на 15,4%. Установлено, что биуголь из Мискантуса характеризуется развитой пористой структурой и высокой удельной поверхностью, благоприятными для иммобилизации бактериальных клеток, так же он способствовал повышению содержания P - на 7,9%, K - на 9,2%, Ca - на 17,8% и Mg - на 1,7 %. Полученные результаты подтверждают перспективность вермикулита и биочара из мискантуса в качестве сорбентов-носителей для создания эффективного микробного биопрепарата.

5. На основании совокупной оценки физико-химических характеристик сорбентов, повышения содержания макроэлементов в почве и результатов тепличного опыта обоснован состав биокомпозита «Вермикулит–Мискантус». На основе полученных результатов разработана технологическая схема получения иммобилизованного биопрепарата «Вермикс». Установлены основные технологические параметры: соотношение вермикулита и биоугля мискантуса - 50:50, исходная концентрация бактериальной суспензии - $10^7$КОЕ/мл, соотношение бактериальной суспензии и биокомпозита - 1:3 (v/w), продолжительность иммобилизации - 18 ч.

**Личный вклад автора:**

Анализ литературных источников по исследуемой проблеме, формулировка цели и задач исследования, проведение экспериментальных работ, статистическая обработка и анализ полученных результатов, написание

научных статей и текста диссертации, оформление рукописи выполнены автором самостоятельно.

**Связь работы с государственными программами:**

Диссертационная работа выполнена в рамках научных проектов AP23490702 «Разработка технологии получения биоугля для устойчивого преобразования отходов биомассы в продукты с добавленной стоимостью» (2024–2026 гг.) и NATO SPS Multi-Year Project G6094 «Mitigation of Climate Change through Miscanthus × giganteus Phytotechnology Applied to Military Sites» (2023–2027 гг.).

**Апробация научной работы:**

Результаты диссертационного исследования были представлены и обсуждены на следующих международных научных конференциях:

– Международная научно-практическая конференция «2nd International Conference on Sustainable Energy and Green Technology ICSEGT 2025», 29–31 мая 2025 года, г. Баку, Азербайджан.

– Международная научно-практическая конференция «RemTech Europe: International Conference and Exhibition on Land and Water Remediation Markets and Technologies», 15–19 сентября 2025 года, г. Феррара, Италия.

– Международная научно-практическая конференция «ICESICS 2025: International Conference on Environmental Sustainability: Innovations, Challenges and Solutions», 6–8 октября 2025 года, г. Алматы, Казахстан.

– Международная научно-практическая конференция «IABEP: International Conference of the International Association for Biochar, Environment and Pollution», 13–15 октября 2024 года, г. Белград, Сербия.

**Публикации:**

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 15 научных трудах, в том числе 2 статьи -в отечественных периодических научных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки Республики Казахстан; 3 статьи -в международных научных журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science: *Microorganisms* (процентиль - 84, Q1), *International Journal of Plant Biology* (процентиль - 70, Q2), *International Journal of Biology and Chemistry* (процентиль - 30, Q3); 8 тезисов - в материалах отечественных и международных научных конференций; 2 статьи -в материалах зарубежных и отечественных международных научных конференций.

**Структура диссертации:**

Диссертационная работа изложена на 174 страницах основного текста. Состоит из нормативных ссылок, определений, обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения и содержащий 342 источников. Работа включает 11 таблиц, 56 рисунков и 2 приложения.